

● RO/KR 27. 10. 2003

REC'D 11 NOV 2003

WIPO

PCT



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.

출 원 번 호 : 10-2002-0066029
Application Number

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

출 원 년 월 일 : 2002년 10월 29일
Date of Application OCT 29, 2002

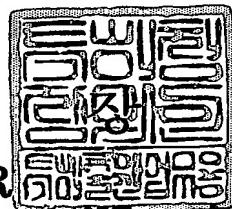
출 원 인 : 학교법인 성균관대학
Applicant(s) SUNGKYUNKWAN UNIVERSITY

2003 년 10 월 27 일



특 허 청

COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2002.10.28
【발명의 명칭】	베르베린을 함유하는 몰핀중독 치료용 약제 및 황련추출물
【발명의 영문명칭】	MEDICAMENT FOR TREATMENT OF MORPHINE POISONING COMPRISING BERBERINE AND COPTIS JAPONICA EXTRACT
【출원인】	
【명칭】	학교법인 성균관대학
【출원인코드】	2-2000-046202-2
【대리인】	
【성명】	이상찬
【대리인코드】	9-2000-000345-4
【포괄위임등록번호】	2001-008301-7
【대리인】	
【성명】	박기환
【대리인코드】	9-2000-000370-4
【포괄위임등록번호】	2001-008294-1
【대리인】	
【성명】	이희명
【대리인코드】	9-2000-000307-8
【포괄위임등록번호】	2001-008297-2
【대리인】	
【성명】	신양환
【대리인코드】	9-2000-000371-1
【포괄위임등록번호】	2001-008299-7
【대리인】	
【성명】	윤여표
【대리인코드】	9-2000-000372-7
【포괄위임등록번호】	2001-008304-9
【발명자】	
【성명의 국문표기】	장춘곤
【성명의 영문표기】	JANG, CHOON-GON

【주민등록번호】 651223-1347944
【우편번호】 440-301
【주소】 경기도 수원시 장안구 정자1동 백설주공아파트 563-706호
【국적】 KR
【발명자】
【성명의 국문표기】 이석용
【성명의 영문표기】 LEE, SEOK-YONG
【주민등록번호】 591209-1411317
【우편번호】 150-794
【주소】 서울특별시 영등포구 여의도동 30-3 삼부아파트 1-51
【국적】 KR
【심사청구】 청구
【취지】 특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사 를 청구합니다. 대리인
 이상찬 (인) 대리인
 박기환 (인) 대리인
 이희명 (인) 대리인
 신양환 (인) 대리인
 윤여표 (인)
【수수료】
【기본출원료】 15 면 29,000 원
【가산출원료】 0 면 0 원
【우선권주장료】 0 건 0 원
【심사청구료】 4 항 237,000 원
【합계】 266,000 원
【감면사유】 학교
【감면후 수수료】 133,000 원
【첨부서류】 1. 요약서·명세서(도면)_1통

【요약서】**【요약】**

본 발명은 남용성 약물에 의한 유해작용의 예방 및 치료용 약제에 관한 것으로, 구체적으로는 정신적 의존성 및 자발운동의 증가에 대하여 억제효과를 나타내는 베르베린을 함유하는 몰핀류 중독의 예방 및 치료용 약제에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 정신적 의존성 및 자발운동의 증가에 대하여 억제효과를 나타내는 황련추출물에 관한 것이다.

본 발명의 베르베린을 함유하는 약제 및 황련추출물은 몰핀류의 중독증상인 정신적 의존성 형성 및 자발운동 증가에 대하여 현저한 억제 효과를 나타내는 바, 몰핀 중독의 치료 및 예방제로 효과적으로 사용할 수 있다.

【대표도】

도 1

【색인어】

베르베린, 황련추출물, 몰핀중독, 정신적의존성, 자발운동

【명세서】**【발명의 명칭】**

베르베린을 함유하는 몰핀중독 치료용 약제 및 황련추출물{MEDICAMENT FOR TREATMENT OF MORPHINE POISONING COMPRISING BERBERINE AND COPTIS JAPONICA EXTRACT}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 생쥐에서 황련(Coptis japonica)이 몰핀에 의한 정신적의존성을 억제하는 효과를 나타내는 그래프이다.

도 2는 생쥐에서 베르베린(berberine)이 몰핀에 의한 정신적의존성을 억제하는 효과를 나타내는 그래프이다.

도 3은 생쥐에서 베르베린이 몰핀에 의한 자발운동의 증가를 억제하는 효과를 나타내는 그래프이다.

【발명의 상세한 설명】**【발명의 목적】****【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】**

<> 본 발명은 마약성 약물에 의한 유해작용의 예방 및 치료에 유용한 약학적 조성물에 관한 것이다. 보다 상세하게는, 본 발명은 정신적 의존성 및 자발운동의 증가에 대하여 억제효과를 나타내는 베르베린을 함유하는 몰핀류 중독의 예방 및 치료제, 및 정신적 의존성 및 자발운동의 증가에 대하여 억제효과를 나타내는 황련추출물에 관한 것이다.

- <5> 남용성 약물은 반복하여 약을 복용하고 싶어하는 정신적 의존을 일으키는 약물로, 몰핀(morphine) 또는 그의 유도체, 코카인(cocaine), 메스암페타민(methamphetamine) 또는 그의 유도체 등이 이에 속한다.
- <6> 몰핀은 마약성 진통제로 비교적 대량 투여하거나 또는 소량이라도 반복적으로 장기간 사용한 경우에는 환각, 망상을 주 증으로 하는 정신흥분효과를 나타내며 이와 같은 정신독성의 출현은 반복사용에 의하여 증강되어, 그 결과 약물에 대한 매우 강한 신체적 또는 정신적 의존성이 형성된다. 즉, 남용성 약물의 주된 특징은 중추신경 흥분효과와 재투약의 욕구를 강하게 느끼는 강화효과를 가진다는 점이다. 따라서, 남용성 약물은 반복투여에 의해 자발운동을 증강시키고 정신적 의존성(psychological dependence)을 일으킨다. 남용성 약물의 반복투여는 도파민(dopamine)을 고갈시키고 도파민 효능신경의 활성을 저하시키는데 그 보상적 기전으로 후시냅스에서의 도파민 수용체가 증가되어 그 결과 도파민 수용체 초파민성과 자발운동의 증가가 형성되고 이들 약물을 재투여하고자 하는 강한 욕구를 갖게 된다. 이러한 몰핀의 정신흥분효과 때문에 그것에 의존하는 탐의자의 수가 나날이 증가되어 왔으며, 이러한 이유로 인해 심각한 사회문제를 야기하고 있어 그 중독자의 치료 및 중독예방제의 개발이 절실히 요구되고 있다.
- <7> 대한민국 특허등록번호 10-0277481호에서는 흥분성 아미노산의 독소자극성 작용에 대해 길항작용하여 흥분성 아미노산 의존성 중추신경계 질환, 대뇌혈관 질환, 정신 질환 등의 치료에 유용한 이사틴옥심 유도체가 개시되어 있다.
- <8> 하지만, 몰핀류의 남용성 약물로 인한 자발운동의 증가 및 정신적 의존성을 치료 및 예방하기 위한 뚜렷한 효능을 가진 약물이 아직까지 개발되어 있지 않은 실정이다.

<9> 그러므로 이러한 자발운동의 증가 및 정신적 의존성의 유해작용은 남용성 약물의 문제점이 되고 있으며, 특히 이들 약물의 남용 및 중독은 심각한 사회문제가 되고 있다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<10> 이에, 본 발명자들은 남용성 약물의 중독증상에 대한 예방 또는 치료용 약제를 예의 연구노력한 결과, 천연물인 황련 추출물과 황련의 주성분인 베르베린이 물핀 중독 모델인 정신적 의존성 형성모델에서 정신적 의존성에 대해 유의적 억제 효과가 있음을 발견하고 본 발명을 완성하게 되었다.

<11> 따라서 본 발명은 물핀류 중독의 예방 및 치료용 약제를 제공하기 위한 것이다.

【발명의 구성 및 작용】

<12> 본 발명은 베르베린 또는 황련추출물의 신규 용도를 제공한다.

<13> 보다 상세하게는 본 발명은 제1 목적으로 정신적 의존성 및 자발운동의 증가에 대하여 억제효과를 나타내는 베르베린을 함유하는, 물핀류 중독의 치료 또는 예방용 약제를 제공한다. 이 약제는 제형 등의 필요에 따라 약학적으로 허용되는 담체를 더 함유할 수 있다.

<14> 본 발명의 약제에 있어서, 베르베린은 시중에서 구입가능한 것을 사용할 수 있으며, 단독 사용 시 물핀의 중독의 치료 및 예방제로서 사용되는 효과적인 베르베린의 투여량은 통상 성인(체중 60kg 기준)의 경우 1일 1회 50 mg 내지 200 mg (복강주사) 또는 250 mg 내지 1g (경구투여)으로 투여하는 것이 바람직하다.

<15> 본 발명은 제2 목적으로 정신적 의존성 및 자발운동의 증가에 대하여 억제효과를 나타내는 황련추출물을 제공한다.

<16> 황련추출물은 예를 들어 음건한 황련을 70% 메탄올에서 냉침하여 얻을 수 있는 메탄올 추출액을 포함하며, 당업계에 통용되는 다른 다양한 방법, 예컨대 물이나 에탄올을 이용한 추출법 등으로 용이하게 수득할 수 있는 것이다. 황련추출물의 투여량은 당해 기술분야에 임상적으로 허용되는 용량 수준으로, 통상 성인(체중 60kg 기준)의 경우 1일 1회 500mg 내지 2g (복강주사) 또는 2.5g 내지 10g (경구투여)으로 투여하는 것이 바람직하다. 물핀과 함께 황련추출물을 사용한 경우에도 물핀에 의한 정신적의존성이 현저하게 억제되는 바 황련추출물이 물핀 중독 치료에 매우 효과적임을 알 수 있었다.

<17> 황련은 미나리아재비과(Ranunculaceae)의 여러해살이 풀로 민가에서는 깽깽이풀이라고도 한다. 잎은 달걀 모양 또는 삼각형이고 깃처럼 갈라졌다. 꽃은 잎이 커지기 전에 뿌리에서 1 내지 2 개의 잎자루보다 짧은 꽂자루가 나와 황색 또는 자홍색으로 편다. 중국 중부지방인 사천, 호북, 귀주, 섬서성 등의 높은 산지대에 자라거나 약초로 재배한다. 학명은 콥티스 키넨시스 프렌치(*Coptis chinensis* Franch)이다. 중국산 황련은 이것 외에도 콥티스 델토이데스 C.Y. Cheng (*Coptis deltoides* C.Y.Cheng), C. 오메이엔시스 C.Y. Cheng (*C. omeiensis* C.Y. Cheng), C. 티토이데스(*C. teetoides* C.Y. Cheng) 등이 있다. 일본에서는 C. 자포니카 마키노(*C. japonica* Makino), 네팔과 인도 북부에서는 C. 티타 월(*C. teeta* Wall)이 자란다.

<18> 뿌리에는 베르베린(berberine)과 알칼로이드가 포함되어 있어서 황색 특히 황금색 염색에 사용 한다. 왕련, 수련, 지련, 천련, 정황련 등의 다른 이름이 있다. 옛날부터 눈병이나 설사의 약재로 사용하였는데, 한방에서는 진정약, 염증약으로 충혈 및 염증성 질병, 가슴두근거림과 정신불안, 배앓이, 설사, 이질 등에 뿌리줄기를 사용하고 있는 전통생약으로서 살균효과, 정장효과 및 항궤양효과 등이 있는 것으로 보고되고 있으며, 반하사심탕, 정장제 및 안신환 등의 제제에 함유되어 정신불안 등의 치료에 사용되고 있다. 또한, 황련은 알카로이드로서 베르베린,

팔마틴(palmatine), 코프티신(coptisine), 및 마그노플로린(magnoflorine) 등을 함유하고 있는 것으로 알려져 있다.

<19> 이와 같이 황련의 주요 성분에 대해서는 이미 공지되어 있다. 구체적으로, 대한민국 특허등록번호 10-281003호에서는 황련의 주요성분이 코프티신, 베르베린 또는 팔마틴이고, 이 성분들이 모노아민 산화효소(MAO) 저해활성이 있음을 개시하면서 이 유효성분들과 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 항우울제를 제시하고 있다. 상기 유효성분은 이소퀴놀린 계열의 프로토베르베린 알카로이드 화합물로서, 생체내 신경전달물질인 모노아민류를 불활성화시키는 것으로 알려진 모노아민 산화효소의 활성을 강력하게 저해하므로 우울증 치료에 효과적으로 사용될 수 있다고 설명하고 있다. 하지만, 상기 유효성분들이 남용성 약물에 의한 자발운동 증가의 억제효과 및 정신적의존성 억제효과가 있는지에 대해서는 어떤 설명이나 암시도 없다.

<20> 따라서, 본 발명은 몰핀 중독 모델인 정신적 의존성 형성모델(조건장소선후실험법)을 통해 베르베린 및 황련추출물의 신규 용도, 즉 몰핀에 의한 자발운동 증가 및 정신적 의존성에 대한 억제효과를 입증하여, 몰핀 중독의 치료 또는 예방용으로서의 베르베린 또는 황련추출물의 신규 용도를 제시한다.

<21> 본 발명의 베르베린을 함유하는 약제는 그 제형에 따라 통상적으로 당해 기술분야에서 널리 사용되는 약학적 허용성 담체를 추가로 함유할 수 있다. 구체적으로, 본 발명의 베르베린을 함유하는 약제는 경구 또는 주사형태로 투여할 수 있다. 경구용 조성물로는 정제 및 젤라틴 캡슐 형태가 있고, 이것은 활성성분 이외에 희석제(예: 락토스, 덱스트로스, 수크로스, 만니톨, 솔비톨, 셀룰로스 및/또는 글리신), 활탁제(예: 실리카, 텔크, 스테아르산 및 그의 마그네슘 또는 칼슘염 및/또는 폴리에틸렌 글리콜)를 함유하고, 정제는 또한 결합제(예: 마그네슘 알루미늄 실리케이트, 전분 페이스트, 젤라틴, 트라가칸트, 메틸셀룰로스, 나트륨 카르복시메틸

셀룰로스 및/또는 폴리비닐피롤리딘)를 함유하며, 경우에 따라서 봉해제(예: 전분, 한천, 알긴산 또는 그의 나트륨염) 또는 비등 혼합물 및/또는 흡수제, 착색제, 향미제 및 감미제를 함유하는 것이 바람직하다. 주사용 조성물은 등장성 수용액 또는 혼탁액이 바람직하고, 언급한 조성물은 멸균되고(되거나) 보조제(예: 방부제, 안정화제, 습윤제 또는 유화제 용액 촉진제, 삼투압 조절을 위한 염 및/또는 완충제)를 함유한다. 또한, 이들은 기타 치료적으로 유용한 물질을 함유할 수 있다.

<22> [급성독성시험]

<23> 베르베린과 황련추출물의 안전 용량에 대해서는 이미 문헌이나 한의학 분야에 공지되어 있다. 예컨대, 베르베린의 랫트에서의 LD₅₀값은 90mg/kg(복강주사)인 것으로 알려져 있다(참조: Tang, W. and Eisenbrand, G., Chinese Drugs of Plant Origin, pp.362-371, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York). 아울러 베르베린과 황련추출물은 현재 의약품 또는 생약으로서 사용되고 있으며 상용량에서 인체에 대한 독성이 거의 없는 것으로 알려져 있다. 따라서, 상기 유효량 범위의 베르베린을 함유하는 몰편중독 치료제 또는 예방제, 및 황련추출물은 인체에 유해하지 않은 안전한 약물임을 당업계에 통상의 지식을 가진 자라면 잘 알 수 있을 것이다.

<24> 이하, 실시예에 의거하여 본 발명을 보다 상세하게 설명하기로 한다. 이 실시예는 단지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 범위가 이를 실시예에 국한되지 않는다는 것은 당업계에 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명한 것이다.

<25> 실시예

<26> [실험 방법 및 재료]

<27> 실험동물은 18 내지 25g 중량의 ICR계 숫컷 생쥐를 온도 및 습도가 일정하게 조절되는 사육실에서 1주일 이상 사육하여 환경에 적응시키고 각 실험에 1군당 10 내지 15마리를 사용하였다. 몰핀은 극동제약(인천 소재), 베르베린은 시그마(미국)에서 구입하여 사용하였다. 황련은 시중에서 구입하여 다음과 같은 방법으로 추출물(extract, 이하 '엑스'라 하기도 함)을 제조하였다: 음건한 식물을 잘게 절단하여 밀봉가능한 병에 넣고 시료가 완전히 잠길 정도로 70% 메탄올을 넣은 다음, 상온에서 3일간 방치하는 냉침과정을 2회 반복하고, 이 메탄올 추출액을 회수하여 여과한 다음, 회전감압농축기를 사용하여 60℃에서 감압농축하여 엑스를 제조하였다.

<28> 실시예 1: 몰핀의 정신적 의존성 형성에 대한 황련 엑스의 억제효과

<29> 몰핀의 정신적 의존성 형성은 조건장소선흐 측정법 (conditioned place preference test)에 의하여 측정하였다.

<30> 1. 실험장치

<31> 가로 세로 높이가 각각 15 cm 인 2개의 상자로 되어 있으며 한쪽은 3면이 흰색 아크릴, 다른쪽은 검은색 아크릴로 되어 있으며, 두 상자의 앞면은 투명한 아크릴로 되어 있다. 두상자의 사이에는 3 x 3 x 7.5 cm의 회색 통로가 설치되어 있으며 그 통로를 가로 막을 수 있는 길로틴 도어가 마련되어 있다. 그리고 두상자의 바닥은 마우스가 질감을 느낄 수 있도록 흰색 상자바닥은 거칠게 처리하고 흑색상자의 바닥에는 매끈하게 처리하였다. 그리고 실험실내의 조도를 30 Lux로 유지하도록 하였다.

<32> 2. 실험스케줄

<33> 단계 1 (기본시험과정)

<34> 제1일에 두상자의 길로틴 도어를 열고 마우스를 CPP장치에 5분동안 자유롭게 움직일 수 있도록 적응시키고, 제 2일에 전날과 똑같이 마우스를 넣고 15분간 두 상자에서의 체재시간을 측정하여 기준값을 얻는다.

<35> 단계 2 (조건화 과정)

<36> 제3, 5, 7, 9일에 두상자의 길로틴도어를 닫고 마우스에 몰핀 5 mg/kg을 i.p.로 투여하고 1시간동안 혐오효과가 있는 흰색의 상자에 넣어둔다. 그리고 제 4, 6, 8, 10일에는 같은 마우스에 생리식염수를 투여하고 선호효과가 있는 검은색 상자에 1시간동안 넣어둔다. 황련엑스는 몰핀 투여 1시간전에 100 mg/kg을 생쥐에게 경구투여하였다.

<37> 단계 3 (시험 과정)

<38> 제 9일에 두상자의 길로틴 도어를 열고 중앙의 통로를 설치한 후 마우스 약물을 투여하지 않은 상태에서 15분간 마우스가 흰색과 검은색에서의 머무른 체재시간을 측정하여 제 2일에 측정한 값과 비교한다. 정신적 의존성형성 정도는 시험값에서 기준값을 뺀 값으로 하여 의존성의 정도로 나타낸다.

<39> 그 결과, 몰핀대조군은 116초의 정신적의존성을 나타내었으며 ($p<0.01$) 몰핀과 황련엑스를 같이 처리한 경우에는 거의 생리식염수대조군과 같은 수준으로 완전히 억제하므로서 몰핀의 정신적의존성을 현저하게 억제하였다 ($p<0.01$) (참조 도 1).

<40> 실시예 2: 몰핀의 정신적 의존성 형성에 대한 베르베린의 억제효과

<41> 베르베린을 몰핀투여 1시간전에 1mg/kg 과 2 mg/kg의 용량으로 복강투여하는 것을 제외하고는 상기 실시예 1에서와 동일한 조건하에 시험하였다. 그 결과 베르베린 2 mg/kg 투여군에서 몰핀의 정신적의존성을 현저하게 억제하는 것으로 나타났다 ($p<0.01$) (참고 도 2).

<42> 실시예 3: 몰핀의 자발운동 증가에 대한 베르베린의 억제효과

<43> 생쥐의 자발운동은 가로 26cm, 세로 30 cm, 높이 30 cm의 플라스틱 챔버에서 비디오 추적 시스템(Video-tracking system)을 이용하여 측정하였다. 먼저 몰핀을 1일 1회 6일동안 10 mg/kg의 용량을 투여하고 마지막 투여 직후 플라스틱 챔버에 넣고 30분간 자발운동량을 관찰하여 컴퓨터를 이용하여 분석하였다. 베르베린은 마지막 몰핀투여 1시간 전에 1, 2 mg/kg 경구로 전처치하고 관찰하였다.

<44> 그 결과 몰핀의 자발운동량은 50242회를 나타내어 현저한 자발운동의 증가작용을 나타내었다. 반면 베르베린 1, 2 mg/kg을 전처치한 군에서는 19744회, 20027회를 나타내어 각각 61%, 60%의 유의한 억제작용을 나타내었다 (각각 $p<0.001$) (참조 도 3).

【발명의 효과】

<45> 이상 살펴본 바와 같이, 황련엑스 100mg/kg을 생쥐의 경구로 투여한 결과 몰핀의 정신적 의존성이 유의하게 억제되고, 또한 황련의 주성분인 베르베린 2mg/kg을 투여한 생쥐군에서도 몰핀의 정신적 의존성이 유의적으로 억제되었다. 이 베르베린의 효과는 정상적인 동물수준(식염수 투여군)으로 거의 완벽하게 몰핀의 중독증상을 개선시키는 효과를 보임으로써 이 단일물질이 강력한 몰핀 중독개선효과를 나타냄을 확인하였다. 또한, 베르베린은 몰핀의 반복투여에 의해 생성되는 자발운동증강효과를 유의하게 억제하였다. 따라서, 황련추출물과 베르베린은 몰핀 중독의 예방 및 치료제로 효과적으로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

【특허청구범위】**【청구항 1】**

정신적 의존성 및 자발운동의 증가에 대하여 억제효과를 나타내는 베르베린을 함유하는 몰핀류 중독의 치료 또는 예방용 약제.

【청구항 2】

제1항에 있어서, 베르베린을 유효성분으로 함유하고, 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는, 몰핀류 중독의 치료 또는 예방용 약제.

【청구항 3】

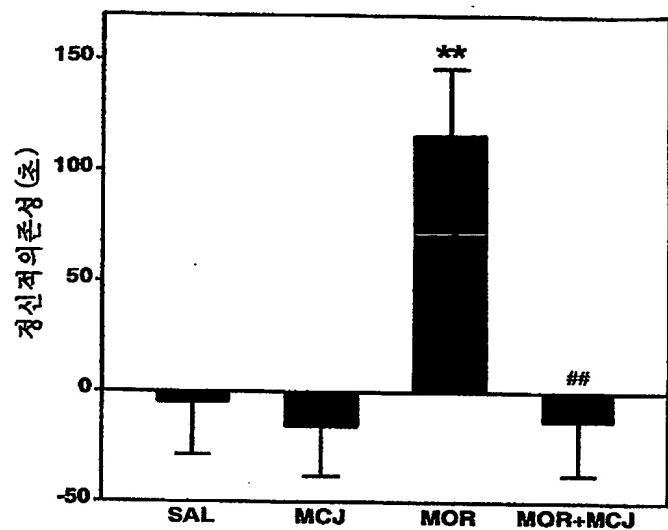
정신적 의존성 및 자발운동의 증가에 대하여 억제효과를 나타내는, 몰핀류 중독의 치료 또는 예방에 효과적인 황련추출물.

【청구항 4】

제3항에 있어서, 70% 메탄올을 이용한 냉침에 의해 제조되는 것이 특징인 황련추출물.

【도면】

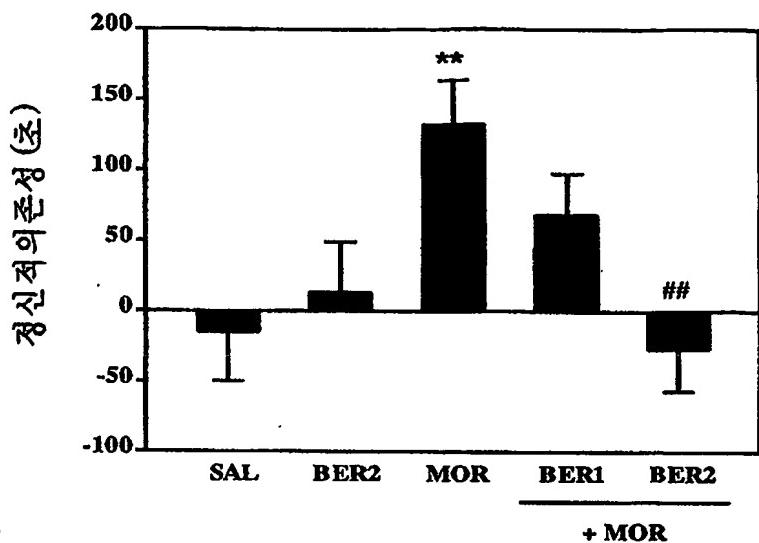
【도 1】



** $p<0.01$, 생리식염수군(SAL)과 비교하여

$p<0.01$, 물핀대조군(MOR)과 비교하여

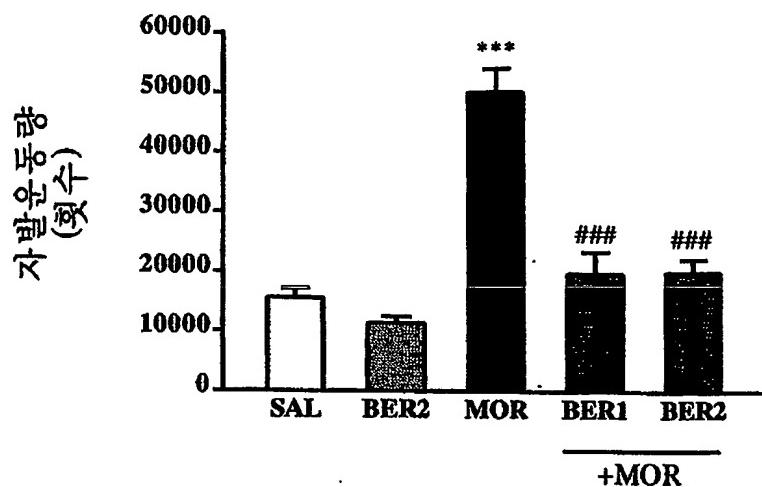
【도 2】



** $p<0.01$, 생리식염수군(SAL)과 비교하여

$p<0.01$, 물편대조군(MOR)과 비교하여

【도 3】



**p<0.001, 생리식염수군(SAL)과 비교하여

##p<0.001, 물핀대조군(MOR)과 비교하여